

CHORUS

Zika IgM Capture

REF 81161



DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Zika IgM Capture

Per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgM anti-Zika virus

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi di classe IgM anti-Zika virus nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti CHORUS TRIO.

2. INTRODUZIONE

Zika virus è un Arbovirus appartenente al genere Flavivirus, della famiglia Flaviviridae, trasmesso dalle zanzare Aedes, ma che a differenza degli altri arbovirus, può essere trasmesso durante rapporti sessuali e per via verticale dalla madre al feto, mediante la placenta ed il liquido amniotico, con conseguenti effetti teratogeni sull'embrione: la mancanza di meccanismi di prevenzione contro ZIKV, rende tale patogeno una causa riemergente di infezioni congenite. Un'importante epidemia è quella che si è verificata nel 2015 in Brasile: nel 2016 il comitato di emergenza del Regolamento Sanitario Internazionale dell'OMS, dichiarò l'infezione da Zika virus una emergenza di sanità pubblica internazionale. La malattia da virus Zika è una malattia virale acuta con manifestazioni cliniche simili a quelle di Dengue, che tende autorisolversi nel giro di 4/6 giorni. Ciò che rende però il virus Zika una minaccia per la salute umana, sono le complicanze neurologiche, causa principale di invalidità e morte indotta da tale patogeno. Il rilevamento diretto del virus o dei componenti del virus (NS1) è possibile solo durante la viremia (massimo 1 settimana); gli anticorpi specifici sono rilevabili chiaramente pochi giorni dopo la comparsa dei sintomi. La rilevazione di anticorpi IgM specifici o un aumento significativo del titolo di IgG specifiche è la prova di un'infezione acuta da ZIKV. È necessario sottolineare le possibili reazioni crociate con altri flavivirus, come Dengue, West Nile, Yellow Fever o TBE virus.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo CHORUS Zika IgM Capture è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgM anti-Zika virus, negli strumenti CHORUS TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) a cattura. Gli anticorpi monoclonali anti-IgM umane vengono legati alla fase solida. Le immunoglobuline IgM si legano agli anticorpi anti-IgM in seguito ad incubazione con campione diluito.

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con l'antigene NS1 Zika legato a specifici anticorpi monoclonali anti-Zika virus, coniugati con perossidasi di rafano.

Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.

La reazione enzimatica viene successivamente bloccata per aggiunta della Soluzione Bloccante che fa virare la soluzione al giallo. Il colore che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti CHORUS TRIO.

I risultati sono espressi in Index (OD campione/OD cut-off).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
 2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
 3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento CHORUS TRIO.
 4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
 5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
 6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata.
- Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti.
- Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) ed impiegare entro 60 minuti.

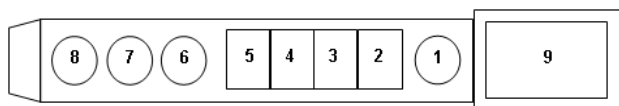
1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento CHORUS TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito DIESSE
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Controllare che lo strumento CHORUS TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.
12. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 9: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 8: ANTIGENE LIOFILO

Contenuto: proteina ricombinante NS1 Zika Virus.

Posizione 7: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con anticorpi monoclonali anti-IgM umane

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato

Posizione 5: SOLUZIONE BLOCCANTE

Soluzione di acido solforico 0.3 M.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina stabilizzata in tampone citrato

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione proteica in tampone fosfato con sodio azide 0.09% e colorante.

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti-Zika virus marcati con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente proteine e fenolo 0.1%.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.450 ml

Contenuto: soluzione proteica contenente proteine in grado di legare in modo specifico fase solida ed immunocomplesso, e conservante

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.900 ml

Contenuto: soluzione proteica contenente proteine in grado di legare in modo specifico fase solida ed immunocomplesso, e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHiesto, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Strumento CHORUS TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8°C
CALIBRATORE	8 settimane a 2/8°C
CONTROLLO POSITIVO	8 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Il siero fresco può essere mantenuto per 5 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C.

Evitare ripetuti scongelamenti.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore potrebbe fornire risultati erranei.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

Il test CHORUS Zika IgM Capture (REF. 81161) può essere eseguito contemporaneamente SOLO con i seguenti kit:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	REF 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgA CAPTURE	REF 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	REF 81042
CHORUS ZIKA IgG	REF 81158
CHORUS ZIKA NS1	REF 81159

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo:

CAMPIONE	50 µl/dispositivo
CALIBRATORE	130 µl/dispositivo
CONTROLLO POSITIVO	130 µl/dispositivo

Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.

4. Introdurre i dispositivi sullo strumento CHORUS TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del siero di controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento CHORUS TRIO fornisce il risultato in Index (OD campione/OD cut-off).

Il test sul siero in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è > 1.1

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.9

EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 0.9 e 1.1

In caso di risultato equivoco, ripetere il test. Se il risultato rimane equivoco, ripetere il prelievo.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 5 campioni (2 Negativi, 1 a Cut-Off e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44-220 IU/mL)
Bilirubina (4.5-45 mg/dL)
Trigliceridi (10-250 mg/dL)
Emoglobina (5-30 mg/mL)

La presenza nel siero in esame delle sostanze interferenti sopra riportate non altera il risultato del test.

13. CROSS-REATTIVI

22 campioni, positivi a Dengue (12) e West Nile (10) sono stati testati.

Sono state rilevate reazioni crociate solo con 2 campioni positivi a West Nile Virus.

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 159 campioni con il kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Predicate		
		+	-	Total
Diesse	+	14	2	16
	-	1	142	143
	Total	15	144	159

Percentuale di concordanza positiva (~ sensibilità diagnostica): 93.3 CI_{95%}: 70.0 – 98.7

Percentuale di concordanza negativa (~ specificità diagnostica):

98.6 CI_{95%}: 95.1 – 99.6

Valore Predittivo Positivo (PPV): 87.5 CI_{95%}: 82.4 – 92.6

Valore Predittivo Negativo (NPV): 99.3 CI_{95%}: 98.0 – 100.0

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.88.

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	4.2	11.9	4.0	14.5
2	0.4	15.0	0.3	13.3
3	0.3	13.3	0.3	3.3
4	1.1	10.9	1.1	10.9
5	1.7	14.7	1.8	12.8

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	4.2	13.9	4.1	14.6
2	0.4	13.4	0.4	12.5
3	0.4	12.4	0.4	15.0
4	1.0	7.4	1.1	11.8
5	1.8	13.2	1.9	12.6

16. BIBLIOGRAFIA

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16
3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581
4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Zika IgM Capture

For the qualitative determination of anti-Zika virus IgM class antibodies

For in vitro diagnostic use only

1. USE

Enzyme immunoassay method for the qualitative determination of anti-Zika virus IgM class antibodies in human serum with a single-use device applied to CHORUS TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Zika virus is an Arbovirus belonging to the genus Flavivirus, of the Flaviviridae family, transmitted by Aedes mosquitoes, but unlike other arboviruses, can be transmitted during sexual intercourse and vertically from the mother to the foetus through the placenta and amniotic fluid, resulting in teratogenic effects on the embryo: the lack of prevention mechanisms against ZIKV makes this pathogen a re-emergent cause of congenital infections. An important epidemic is the one that took place in 2015 in Brazil: in 2016 the WHO International Health Regulation Emergency Committee, declared Zika virus infection as an international public health emergency. Zika virus disease is an acute viral disease with clinical manifestations similar to those of Dengue, which tends to self-resolve within 4-6 days. However, what makes the Zika virus a threat to human health are neurological complications, which are the main cause of disability and death induced by this pathogen. Direct detection of the virus or components of the virus (NS1) is possible only during viraemia (maximum 1 week); specific antibodies are clearly detectable a few days after onset of the symptoms. Detection of specific IgM antibodies or a significant increase in specific IgG titre is evidence of acute ZIKV infection. Possible cross-reactions with other flaviviruses such as Dengue, West Nile, Yellow Fever or TBE virus should be emphasised.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The CHORUS Zika IgM Capture device is ready to use for the determination of anti-Zika virus **IgM** antibodies in CHORUS TRIO instruments.

The test is based on the capture ELISA principle (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Human anti-IgM monoclonal antibodies are bound to the solid phase. IgM immunoglobulins bind to anti-IgM antibodies following incubation with a diluted sample.

After washing to remove proteins that have not reacted, incubation is carried out with the Zika NS1 antigen bound to specific anti-Zika virus monoclonal antibodies conjugated with horseradish peroxidase.

The unbound conjugate is removed and the substrate for the peroxidase is added.

The enzymatic reaction is subsequently stopped by adding the Stop Solution which causes the solution to turn yellow.

The colour that develops is proportional to the concentration of specific antibodies in the serum under examination.

The single-use devices contain all the reagents to perform the test when applied to the CHORUS TRIO instruments.

The results are expressed in Index (sample OD/cut-off OD).

4. PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY.

This kit contains materials of human origin which have been tested and found negative for both HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. Since no diagnostic test can offer a complete guarantee on the absence of infectious agents, any material of human origin must be considered potentially infected. All reagents and samples must be handled in accordance with the safety standards normally adopted in the laboratory.

Disposal of residues: the serum samples, calibrators and strips used must be treated as infected residues, therefore disposed of in accordance with the provisions of current laws.

Personal safety warnings

1. Do not pipette with your mouth.
2. Use single-use gloves and eye protection when handling samples.
3. Wash your hands thoroughly after inserting the devices into the CHORUS TRIO instrument.
4. Refer to the Safety Data Sheet (available on request) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
5. Neutralised acids and other liquid waste must be disinfected by adding sodium hypochlorite in a volume sufficient to obtain a final concentration of at least 1%. Exposure to 1% sodium hypochlorite for 30 minutes should be sufficient to ensure effective disinfection.
6. Any spillage of potentially infected materials must be removed immediately with absorbent paper and the contaminated area must be decontaminated, for example with 1% sodium hypochlorite, before continuing work. If an acid is present, sodium hypochlorite must not be used before the area has been dried.

All materials used to decontaminate any accidental spillage, including gloves, must be discarded as potentially infected waste.

Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical warnings

Before use, bring the devices to be used to room temperature (18-30°C) and use within 60 minutes.

1. **Discard the devices with blue coloured substrate (well 4).**
2. When adding the sample to the well, check that it is perfectly distributed at the bottom.
3. Check the actual presence of reagents in the device and the integrity of the device itself. Do not use devices that lack any reagents and/or that have any foreign bodies in the reaction well when visually inspected.

4. The devices must be used in conjunction with the CHORUS TRIO instrument, strictly following the Instructions for Use and the User Manual of the instrument.

Use of the kit is only possible with an updated version of the software. Make sure that the software installed in the instrument matches or has a release (Rel.) date later than the one shown in the table published on the Diesse website

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

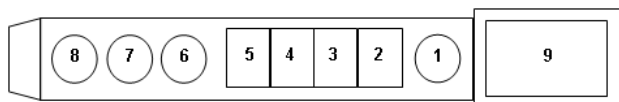
5. Check that the CHORUS TRIO instrument is set correctly (see User Manual).
6. Do not alter the barcode placed on the handle of the device in order to allow it to be read correctly by the instrument.
7. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage.
8. Defective barcodes can be manually entered into the instrument (see User Manual).
9. Do not expose the devices to strong lighting or hypochlorite vapours during storage and use.
10. The use of heavily haemolysed, lipemic, icteric, non-fully coagulated serum samples or of samples with microbial contamination may be a source of errors.
11. Do not use the device after its expiry date.
12. **Check that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests

DD DEVICES 6 packs of 6 devices each

Description:



Position 9: Space available for barcode label

Position 8: LYOPHILIC ANTIGEN

Content: Zika Virus NS1 recombinant protein

Position 7: MICROPLATE WELL

Sensitised with human anti-IgM monoclonal antibodies

Position 6: MICROPLATE WELL

Not sensitised

Position 5: STOP SOLUTION

0.3 M sulphuric acid solution

Position 4: TMB SUBSTRATE

Content: Tetramethylbenzidine stabilised in citrate buffer

Position 3: DILUENT FOR SAMPLES

Content: Protein solution in phosphate buffer with 0.09% sodium azide and colouring

Position 2: CONJUGATE

Content: anti-Zika virus monoclonal antibodies marked with peroxidase in phosphate buffer solution containing proteins and 0.1% phenol

Position 1: EMPTY WELL

Where the sample is transferred.

Usage: bring a bag to room temperature, open the bag, take out the necessary devices; store the others in the bag containing the silica gel, let the air out and seal by pressing on the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR

1 x 0.450 ml

Content: protein solution containing proteins able to specifically bind the solid phase and immunocomplex, and preservative.

Liquid, ready to use.

CONTROL +

POSITIVE CONTROL

1 x 0.900 ml

Content: protein solution containing proteins able to specifically bind the solid phase and immunocomplex, and preservative.

Liquid, ready to use.

OTHER MATERIAL REQUIRED, BUT NOT SUPPLIED:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- CHORUS TRIO instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test tubes, etc.
- Micropipettes capable of accurately withdrawing volumes of 50-200µl.
- Single-use gloves
- 5% sodium hypochlorite solution
- Containers for the collection of potentially infected materials

6. STORAGE METHOD AND REAGENT STABILITY

Reagents must be stored at 2-8°C. In the event of an incorrect storage temperature, the calibration must be repeated and the correctness of the result checked using the control serum (see section 9: Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the outer label of the package.

Reagents have limited stability after opening and/or preparation:

DEVICES	8 weeks at 2-8°C
CALIBRATOR	8 weeks at 2-8°C
POSITIVE CONTROL	8 weeks at 2-8°C

7. SAMPLE TYPE AND STORAGE

The sample type is serum obtained from blood collected by normal venous blood sampling and handled as required by standard laboratory procedures.

The consequences of using other body fluids are unknown.

Fresh serum can be kept for 5 days at 2-8°C; for longer storage periods, freeze at -20°C.

Avoid repeated thawing.

Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage. After thawing, carefully shake the sample before dosing.

Inactivation to heat might give erroneous results.

Sample quality can be seriously affected by microbial contamination which can lead to erroneous results.

8. PROCEDURE

The CHORUS Zika IgM Capture test (REF. 81161) can be carried out simultaneously **ONLY** with the following kits:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	REF 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgA CAPTURE	REF 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	REF 81042

CHORUS ZIKA IgG
CHORUS ZIKA NS1

REF 81158
REF 81159

1. Open the bag (side containing the snap closure), take the number of devices needed to perform the tests and store the others by closing the bag after letting the air out.
2. Visually check the status of the device according to the instructions in section 4 Analytical Warnings.
3. Dispense into well no. 1 of each device:

SAMPLE 50 µl/device
CALIBRATOR 130 µl/device
POSITIVE CONTROL 130 µl/device

At each batch change use a device for the calibrator.

4. Introduce the devices on the CHORUS TRIO instrument. Perform the calibration (if required) and the test as indicated in the User Manual of the instrument.

9. TEST VALIDATION

Use the positive control serum to verify the correctness of the result obtained, processing it as indicated in the User Manual of the instrument. If the instrument indicates that the control serum has a value outside the acceptability limit, the calibration must be performed again. Previous results will be corrected automatically.

If the control serum result continues to be outside the acceptability range, contact Scientific Support.

Phone: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE TEST

The CHORUS TRIO instrument provides the result in Index (sample OD/cut-off OD).

The test on the serum under examination can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is >1.1

NEGATIVE: when the result is <0.9

AMBIGUOUS: when the result is between 0.9 and 1.1

In case of an ambiguous result, repeat the test. If the result remains ambiguous, repeat the sampling.

11. TEST LIMITATIONS

All values obtained require a careful interpretation, without ever disregarding other indicators relating to the same patient. The test, in fact, cannot be used on its own for a clinical diagnosis and the result obtained must always be evaluated together with data from the patient's medical history and/or from other diagnostic investigations.

12. ANALYTICAL SPECIFICITY

5 samples were tested (2 Negative, 1 at Cut-Off and 2 Positive) to which the following interfering agents were added:

Rheumatoid Factor (44-220 IU/mL)
Bilirubin (4.5-45 mg/dL)
Triglycerides (10-250 mg/dL)
Hemoglobin (5-30 mg/mL)

The presence of the above interfering substances in the test serum does not alter the test result.

13. CROSS-REACTIVITY

22 samples positive for Dengue (12) and West Nile (10) were tested.

Cross-reactions were detected with only 2 samples positive to West Nile Virus.

14. COMPARISON STUDIES

In one trial, 159 samples were analysed with a Diesse kit and with another commercially available kit.

The trial data are outlined below:

		Predicate		
		+	-	Total
Diesse	+	14	2	16
	-	1	142	143
	Total	15	144	159

Positive percentage agreement (~ diagnostic sensitivity): 93.3
CI_{95%}: 70.0 – 98.7

Negative percentage agreement (~ diagnostic specificity):
98.6 CI_{95%}: 95.1 – 99.6

Positive Predictive Value (PPV): 87.5 CI_{95%}: 82.4 - 92.6

Negative Predictive Value (NPV): 99.3 CI_{95%}: 98.0 - 100.0

The degree of agreement between the two methods is excellent with a K value (Cohen's coefficient) of 0.88

15. ACCURACY AND REPEATABILITY

Sample	Within the session		Between sessions	
	Mean (Index)	CV%	Mean (Index)	CV%
1	4.2	11.9	4.0	14.5
2	0.4	15.0	0.3	13.3
3	0.3	13.3	0.3	3.3
4	1.1	10.9	1.1	10.9
5	1.7	14.7	1.8	12.8

Sample	Between batches		Between instruments	
	Mean (Index)	CV%	Mean (Index)	CV%
1	4.2	13.9	4.1	14.6
2	0.4	13.4	0.4	12.5
3	0.4	12.4	0.4	15.0
4	1.0	7.4	1.1	11.8
5	1.8	13.2	1.9	12.6

16. BIBLIOGRAPHY

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16
3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581

4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS Zika IgM Capture

**Pro kvalitativní stanovení protilátek třídy IgM
proti viru Zika**

Určeno pouze k diagnostice in vitro

1. POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda pro kvalitativní stanovení protilátek třídy IgM proti viru Zika v lidském séru pomocí jednorázového nástroje pro zařízení CHORUS TRIO.

2. ÚVOD

Virus Zika je arbovirus patřící do rodu Flavivirus v rámci čeledi Flaviviridae. Je přenášený komáry Aedes, ale na rozdíl od jiných arbovirů se může přenášet při pohlavním styku a vertikálně z matky na plod placentou a plodovou vodou s následnými teratogenními účinky na embryo: nedostatek preventivních mechanismů proti ZIKV činí z tohoto patogenu znovu se objevující příčinu vrozených infekcí. V roce 2015 se v Brazílii objevila rozsáhlá epidemie: v roce 2016 vyhlásil krizový výbor Mezinárodních zdravotnických předpisů WHO infekci virem Zika za mezinárodní ohrožení veřejného zdraví. Onemocnění virem Zika je akutní virové onemocnění s klinickými projevy podobnými dengue, které má tendenci samo odeznít během 4 až 6 dnů. Virus Zika však představuje hrozbu pro lidské zdraví především v podobě neurologických komplikací, které jsou hlavní příčinou invalidity a úmrtí způsobených tímto patogenem. Přímá detekce viru nebo složek viru (NS1) je možná pouze během virémie (maximálně 1 týden); specifické protilátky jsou jasně detekovatelné několik dní po nástupu příznaků. Detekce specifických IgM protilátek nebo významné zvýšení titru specifického IgG je důkazem akutní infekce ZIKV. Je třeba zdůraznit možné zkřížené reakce s jinými flaviviry, jako je dengue, západonilská horečka, žlutá zimnice nebo virus TBE.

3. PRINCIP METODY

Nástroj CHORUS Zika Igm Capture je připraven k použití pro stanovení IgM protilátek proti viru Zika za pomoci zařízení CHORUS TRIO.

Test je založen na principu zachytnosti ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Monoklonální protilátky lidských anti-IgM jsou vázány na pevnou fázi. Immunoglobuliny IgM se vážou na protilátky anti-IgM po inkubaci se zředěným vzorkem.

Po vymytí za účelem odstranění proteinů, které nezařagovaly, se provádí inkubace s antigenem NS1 Zika vázaným na specifické monoklonální protilátky proti viru Zika konjugované s křenovou peroxidázou.

Dojde k odstranění nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát.

Enzymatická reakce je následně zastavena přidáním blokačního roztoku, který zabarví roztok do

žluta. Intenzita vzniklého zabarvení je přímo úměrná koncentraci specifických protilátek přítomných ve zkoumaném séru.

Jednorázové nástroje obsahují všechny reagentie potřebné k provedení testu při použití zařízení CHORUS TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako Index (OD vzorku/OD cut-off).

4. BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE IN VITRO.

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykazaly negativní výsledky při použití testů schválených pro stanovení přítomnosti HBsAg a protilátek anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agenti nejsou přítomni, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení se všemi reagenty a vzorky je nutné dodržovat bezpečnostní opatření běžně přijímaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat je v souladu s platnými právními předpisy.

Upozornění týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušných bezpečnostních listech (k dispozici na požádání).
5. Neutralizované kyseliny i jiné tekuté odpady je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
6. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty je nutné nejprve ořtením vysušit. Všechny materiály použité k čištění případně potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkládějte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechejte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30°C) a použijte je do 60 minut.

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, zda jsou v nástroji přítomny všechny reagentie a zda nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, u nichž je při vizuální kontrole zjištěna

nepřítomnost některé reagentie a/nebo přítomnost cizího tělesa v reagenční jamce.

- Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením CHORUS TRIO; je třeba pozorně dodržovat uživatelskou příručku a návod k obsluze zařízení.

Používání soupravy je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že je verze softwaru nainstalovaného v zařízení vyšší nebo stejná jako verze uvedená v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

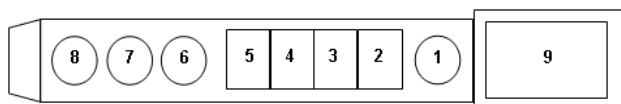
- Zkontrolujte, zda je zařízení CHORUS TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze).
- Dbejte, aby nedošlo k porušení čárového kódu na rukojeti nástroje, aby jej zařízení mohlo správně přečíst.
- Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním.
- Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
- Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
- Zdrojem chyb může být použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků představujících mikrobiální znečištění.
- Nepoužívejte nástroj po uplynutí data spotřeby.
- Ujistěte se, že je zařízení připojeno k promývacímu pufru Washing Buffer (ref. 83606)**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích v každém balení

Popis:



Pozice 9: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 8: LIOFILNÍ ANTIGEN

Obsah: rekombinantní protein NS1 Zika Virus.

Pozice 7: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená monoklonálními protilátkami lidských anti-IgM

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Nepotažená

Pozice 5: BLOKAČNÍ ROZTOK

Roztok kyseliny sírové 0,3 M.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin stabilizovaný v citrátovém pufru

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKŮ

Obsah: Proteinový roztok ve fosfátovém pufru s azidem sodným 0,09 % a barvivem.

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: monoklonální protilátky proti viru Zika označené peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím proteiny a fenol 0,1%.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kam je přenesen vzorek.

Použití: nechte balení stabilizovat při pokojové teplotě, poté jej otevřete, vyjměte potřebné nástroje, ostatní vraťte do sáčku se siliciovým gelem, vypusťte vzduch a balení znovu neprodyšně uzavřete stisknutím uzávěru. Skladujte při teplotě 2/8 °C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0,450 ml

Obsah: proteinový roztok obsahující proteiny schopné specificky vázat pevnou a imunokomplexní fázi a konzervační látku. Tekutina, připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0,900 ml

Obsah: proteinový roztok obsahující proteiny schopné specificky vázat pevnou a imunokomplexní fázi a konzervační látku. Tekutina, připravená k použití.

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Zařízení CHORUS TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr objemů 50–200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby na sběr potenciálně infekčního materiálu

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2/8°C. Skladujete-li reagencie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz kapitola 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každém komponentu a na vnějším štítku soupravy.

Reagencie mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8°C

7. TYP VZORKŮ A JEJICH SKLADOVÁNÍ

Vzorek je sérum získané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 5 dnů při teplotě 2/8°C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu -20°C.

Vyvarujte se opakovaného rozmrazování.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním. Rozmražené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Inaktivace teplem by mohla vést k chybným výsledkům.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

Test CHORUS Zika IgM Capture (REF. 81161) lze provádět současně POUZE s následujícími soupravami:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	REF 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgA CAPTURE	REF 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	REF 81042
CHORUS ZIKA IgG	REF 81158
CHORUS ZIKA NS1	REF 81159

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte množství nástrojů požadované pro testy a poté, co z balení vytlačíte vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte vizuálně stav nástroje podle údajů uvedených v kapitole 4 Opatření pro správné provedení testu.
3. Do jamky č. 1 každého nástroje dejte:

VZOREK	50 µl/nástroj
KALIBRÁTOR	130 µl/nástroj
POZITIVNÍ KONTROLA	130 µl/nástroj

Při každé změně šarže použijte nástroj pro kalibrátor.

4. Umístěte nástroje do zařízení CHORUS TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle návodu k obsluze zařízení.

9. VALIDACE TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu k obsluze zařízení. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, kalibraci je třeba zopakovat. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte oddělení vědecké podpory.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

Zařízení CHORUS TRIO poskytuje výsledek jako Index (OD vzorku/OD cut-off).

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1,1

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 0,9

NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek v rozmezí 0,9 až 1,1

V případě nejednoznačného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test nejednoznačný, odeberte nový vzorek.

11. OMEZENÍ TESTU

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samostatně. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a/nebo jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Bylo testováno 5 vzorků (2 negativní, 1 Cut-Off a 2 pozitivní), ke kterým byly přidány následující interferenční látky:

Revmatoidní faktor (44-220 IU/ml)

Bilirubin (4,5-45 mg/dL)
Triglyceridy (10-250 mg/dL)
Hemoglobin (5-30 mg/mL)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

13. KŘÍŽOVÁ REAKTIVITA

Bylo testováno 22 vzorků pozitivních na dengue (12) a západonilskou horečku (10).

Křížové reakce byly zjištěny pouze u 2 vzorků pozitivních na virus západonilské horečky.

14. SROVNÁNÍ METOD

V experimentální studii bylo analyzováno 159 vzorků pomocí soupravy Diesse a pomocí dalšího komerčního testu.

Výsledky této studie shrnuje následující tabulka:

		Predicate		
		+	-	Celkem
Diesse	+	14	2	16
	-	1	142	143
	Celkem	15	144	159

Procento pozitivní konkordance (~ diagnostická citlivost): 93,3
CI_{95%}: 70,0 – 98,7

Procento negativní konkordance: (~ diagnostická specifita): 98,6
CI_{95%}: 95,1 – 99,6

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV): 87,5 CI_{95%}: 82,4 – 92,6

Negativní prediktivní hodnota (NPV): 99,3 CI_{95%}: 98,0 – 100,0

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) dosahující 0,88.

15. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměrný Index	Variační koeficient (CV) %	Průměrný Index	Variační koeficient (CV) %
1	4,2	11,9	4,0	14,5
2	0,4	15,0	0,3	13,3
3	0,3	13,3	0,3	3,3
4	1,1	10,9	1,1	10,9
5	1,7	14,7	1,8	12,8

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměrný Index	Variační koeficient (CV) %	Průměrný Index	Variační koeficient (CV) %
1	4,2	13,9	4,1	14,6
2	0,4	13,4	0,4	12,5
3	0,4	12,4	0,4	15,0
4	1,0	7,4	1,1	11,8
5	1,8	13,2	1,9	12,6

16. BIBLIOGRAFIE

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16

3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581
4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Zika IgM Capture

Zur qualitativen Bestimmung von Anti-Zika-Virus-Antikörpern der IgM-Klasse

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

Enzymimmunoassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung von Anti-Zika-Virus-Antikörpern der Klasse IgM in Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit CHORUS TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

2. EINLEITUNG

Das Zika-Virus ist ein Arbovirus, das zur Gattung Flavivirus der Familie Flaviviridae gehört und von Aedes-Mücken übertragen wird. Im Gegensatz zu anderen Arboviren kann es jedoch beim Geschlechtsverkehr und vertikal über die Plazenta und das Fruchtwasser von der Mutter auf den Fötus übertragen werden, was teratogene Auswirkungen auf den Embryo hat: Das Fehlen von Präventionsmechanismen gegen das ZIKV macht diesen Erreger zu einer wiederkehrenden Ursache für kongenitale Infektionen. Im Jahr 2015 kam es in Brasilien zu einem größeren Ausbruch: 2016 erklärte das Notfallkomitee der Internationalen Gesundheitsvorschriften der WHO die Zika-Virusinfektion zum internationalen Gesundheitsnotstand. Bei der Zika-Viruserkrankung handelt es sich um eine akute Viruserkrankung mit ähnlichen klinischen Symptomen wie bei Dengue, die in der Regel innerhalb von 4 bis 6 Tagen von selbst abklingt. Was das Zika-Virus jedoch zu einer Bedrohung für die menschliche Gesundheit macht, sind neurologische Komplikationen, die Hauptursache der durch diesen Erreger verursachten Behinderungen und Todesfälle. Ein direkter Nachweis des Virus bzw. der Virusbestandteile (NS1) ist nur während der Virämie (maximal 1 Woche) möglich; spezifische Antikörper sind einige Tage nach Auftreten der Symptome eindeutig nachweisbar. Der Nachweis spezifischer IgM-Antikörper oder ein signifikanter Anstieg des Titers von spezifischen IgG-Antikörpern ist ein Hinweis auf eine akute ZIKV-Infektion. Hervorzuheben sind mögliche Kreuzreaktionen mit anderen Flaviviren wie Dengue-, West-Nile-, Gelbfieber- oder FSME-Virus.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul CHORUS Zika IgM Capture ist gebrauchsfertig für den Nachweis von Anti-Zika-Virus-IgM-Antikörpern in CHORUS TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf dem Capture-ELISA-Verfahren (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Die monoklonalen humanen IgM-Antikörper sind an die Festphase gebunden. Die IgM-Immunglobuline binden sich nach der Inkubation mit einer verdünnten Probe an IgM-Antikörper.

Nach dem Waschen, um Proteine zu entfernen, die nicht reagiert haben, wird die Inkubation mit dem Antigen NS1 Zika ausgeführt, das an spezifische monoklonale Anti-Zika-Virus-Antikörper gebunden ist, die mit Meerrettichperoxidase konjugiert sind.

Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.

Die Enzymreaktion wird anschließend durch die Zugabe von Blockierlösung blockiert, welche die Lösung gelb werden lässt.

Die Intensität der Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper im untersuchten Serum.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den CHORUS TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off).

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das mit zugelassenen Methoden sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 und Anti-HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Serumproben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den CHORUS TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte das Sicherheitsdatenblatt (auf Anfrage erhältlich).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die verschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde.
Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der

Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden.

Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Die zu verwendenden Testmodule vor dem Gebrauch auf Umgebungstemperatur (18–30 °C) bringen und innerhalb von 60 Minuten verwenden.

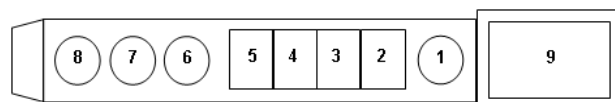
1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen und/oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem CHORUS TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
Die Verwendung des Testsatzes ist nur mit einer aktualisierten Softwareversion möglich. Sicherstellen, dass die im Analysator installierte Software mit jener, die in der Tabelle auf der Diesse-Website angegeben ist, übereinstimmt, oder dass es sich um eine höhere Version (Rel.) handelt
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollieren, ob der CHORUS TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koaguliertem Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
12. **Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (REF. 83606) verbunden ist.**

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 9: Platz für Strichcode-Etikett

Position 8: LYOPHILES ANTIGEN

Inhalt: Rekombinantes Protein des NS1-Zika-Virus.

Position 7: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Sensibilisiert mit monoklonalen humanen IgM-Antikörpern

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

Position 5: BLOCKIERLÖSUNG

Schwefelsäurelösung 0,3 M.

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin in Citratpuffer stabilisiert

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Proteinlösung in Phosphatpuffer mit Natriumazid 0,09 % und Farbstoff.

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: peroxidase-markierte monoklonale Anti-Zika-Virus-Antikörper in Phosphatpufferlösung mit Protein und 0,1 % Phenol.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

Für die Probe.

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurück legen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss **versiegeln**. Bei 2–8 °C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.450 ml

Inhalt: Proteinlösung mit Proteinen, die in der Lage sind, die feste Phase und den Immunkomplex auf spezifische Weise zu binden, und Konservierungsmittel
Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.900 ml

Inhalt: Proteinlösung mit Proteinen, die in der Lage sind, die feste Phase und den Immunkomplex auf spezifische Weise zu binden, und Konservierungsmittel.
Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

- WASCHPUFFER [REF.] 83606
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 [REF.] 83609
- DESINFektionsLÖSUNG [REF.] 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVKONTROLLE/RROBENVERDÜNNUNGSMITTE L [REF.] 83607
- CHORUS TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl.
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe des Kontrollserums überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen bzw. der Vorbereitung eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2–8 °C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2–8 °C

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Das frische Serum kann bei 2–8 °C 5 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei –20 °C eingefroren.

Wiederholtes Auftauen vermeiden.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

Eine Hitzeinaktivierung kann zu falschen Ergebnissen führen.

Durch eine mikrobielle Kontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

8. VORGEHENSWEISE

Der CHORUS Zika IgM Capture-Test (REF. 81161) kann gleichzeitig NUR mit den folgenden Kits durchgeführt werden:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	REF. 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgA CAPTURE	REF. 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	REF. 81042
CHORUS ZIKA IgG	REF. 81158
CHORUS ZIKA NS1	REF. 81159

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. Folgendes in die Vertiefung 1 jedes Testmoduls geben:

PROBE	50 µl/Testmodul
KALIBRATOR	130 µl/Testmodul
POSITIVE KONTROLLE	130 µl/Testmodul

Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.

4. Die Testmodule in den CHORUS TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den

Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses das positive Kontrollserum verwenden. Es wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für das Kontrollserum einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis des Kontrollserums weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
E-Mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der CHORUS TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off).

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis >1,1
NEGATIV: bei Ergebnis <0,9
MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 0,9 und 1,1

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis mehrdeutig ist. Sollte das Ergebnis weiterhin mehrdeutig bleiben, die Blutabnahme wiederholen.

11. GRENZEN DES TESTS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind.

Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 5 Proben (2 negative, 1 Cut-Off und 2 positive) getestet, denen folgende Interferenzen beigelegt wurden:

Rheumafaktor (44–220 IE/ml)
Bilirubin (4,5–45 mg/dl)
Triglyceride (10–250 mg/dl)
Hämoglobin (5–30 mg/ml)

Die Präsenz der oben genannten Interferenzen im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

13. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 22 Proben, die positiv auf Dengue (12) und West-Nile (10) waren, getestet.

Kreuzreaktionen wurden nur bei 2 West-Nil-Virus-positiven Proben festgestellt.

14. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 159 Proben mit dem Testsatz von Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Vorhersagen		
		+	-	Insgesamt
	+	14	2	16
	-	1	142	143
Diesse	Insgesamt	15	144	159

Positive Übereinstimmungsrate (~diagnostische Sensitivität): 93,3 CI95 %: 70,0–98,7

Negative Übereinstimmungsrate: (~diagnostische Spezifität): 98,6 CI95 %: 95,1–99,6

Positiver Vorhersagewert (PPV): 87,5 CI95%: 82,4–92,6

Negativer Vorhersagewert (NPV): 99,3 CI95%: 98,0–100,0

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohen-Koeffizient) von 0,88 optimal.

15. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (Index)	VK %	Mittelwert (Index)	VK %
1	4,2	11,9	4,0	14,5
2	0,4	15,0	0,3	13,3
3	0,3	13,3	0,3	3,3
4	1,1	10,9	1,1	10,9
5	1,7	14,7	1,8	12,8

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (Index)	VK %	Mittelwert (Index)	VK %
1	4,2	13,9	4,1	14,6
2	0,4	13,4	0,4	12,5
3	0,4	12,4	0,4	15,0
4	1,0	7,4	1,1	11,8
5	1,8	13,2	1,9	12,6

16. LITERATUR

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16
3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581
4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS Zika IgM Capture

**Για τον ποιοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων κλάσης IgM έναντι του ιού Zika**

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων κλάσης IgM έναντι του ιού Zika στον ανθρώπινο ορό με συσκευή μίας χρήσης σε συνδυασμό με τους αναλυτές CHORUS TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιός Zika είναι ένας αρμποϊός που ανήκει στο γένος των φλαβοϊών, της οικογένειας Flaviviridae. Μεταδίδεται από τα κουνούπια του γένους Aedes, αλλά, σε αντίθεση με άλλους αρμποϊούς, μπορεί να μεταδοθεί κατά τη σεξουαλική επαφή, καθώς και κάθετα από τη μητέρα στο έμβρυο μέσω του πλακούντα και του αμνιακού υγρού, με επακόλουθες τερατογόνες επιδράσεις στο έμβρυο: η έλλειψη μηχανισμών πρόληψης κατά του ιού Zika καθιστά το εν λόγω παθογόνο αιτία νεοαναδυόμενων συγγενών λοιμώξεων. Μια σημαντική επιδημία είναι αυτή που καταγράφηκε το 2015 στη Βραζιλία: το 2016 η επιτροπή επείγοντων περιστατικών του Διεθνούς Υγειονομικού Κανονισμού του ΠΟΥ ανακήρυξε τη μόλυνση από τον ιό Zika επείγον περιστατικό δημόσιας υγείας διεθνούς εμβέλειας. Η νόσηση από τον ιό Zika είναι μια οξεία ιογενής νόσος με κλινικές εκδηλώσεις παρόμοιες με εκείνες του Δάγκειου Πυρετού, η οποία συνήθως υποχωρεί αυτόματα σε 4-6 ημέρες. Αυτό που καθιστά τον ιό Zika απειλητικό για την ανθρώπινη υγεία, ωστόσο, είναι οι νευρολογικές επιπλοκές, οι οποίες αποτελούν την κύρια αιτία αναπηρίας και θανάτου που προκαλεί το εν λόγω παθογόνο. Η άμεση ανίχνευση του ιού ή των συστατικών του ιού (NS1) είναι δυνατή μόνο στη διάρκεια της ιαιμίας (μέγιστο 1 εβδομάδα). Τα ειδικά αντισώματα είναι σαφώς ανιχνεύσιμα λίγες ημέρες μετά την εμφάνιση των συμπτωμάτων. Η ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων IgM ή σημαντικής αύξησης του τίτλου ειδικών αντισωμάτων IgG καταδεικνύει οξεία λοίμωξη από τον ιό Zika. Είναι απαραίτητο να υπογραμμιστούν οι δυνητικές διασταυρούμενες αντιδράσεις με άλλους φλαβοϊούς, όπως ο ιός του Δάγκειου Πυρετού, ο ιός του Δυτικού Νείλου, ο ιός του Κίτρινου Πυρετού ή ο ιός της Κροτωνογενούς Εγκεφαλίτιδας.

3. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεχνολογικό προϊόν CHORUS Zika IgM Capture είναι μια συσκευή έτοιμη προς χρήση για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgM έναντι του ιού Zika στους αναλυτές CHORUS TRIO.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) τύπου capture. Τα ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IgM δεσμεύονται στη στερεά

φάση. Οι ανοσοσφαιρίνες IgM δεσμεύονται στα αντισώματα αντι-IgM μετά από επώαση με αραιωμένο δείγμα.

Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το αντιγόνο NS1 Zika, που είναι δεσμευμένο σε ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα αντι-Zika συζευγμένα με υπεροξειδάση ραφανιδών.

Απομακρύνεται το σύζευγμα που δεν δεσμεύθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση.

Στη συνέχεια, διακόπτεται η ενζυμική αντίδραση με προσθήκη του διαλύματος τερματισμού, που χρωματίζει το διάλυμα κίτρινο. Το χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων στον ορό υπό εξέταση. Οι εν λόγω συσκευές μίας χρήσης περιλαμβάνουν όλα τα απαιτούμενα αντιδραστήρια για τη διεξαγωγή του τεστ στους αναλυτές CHORUS TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως Δείκτης (Index) (OD δείγματος/OD cut-off).

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν ελεγχθεί με εγκεκριμένα τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά για HBsAg και για αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Δεδομένου ότι καμία διαγνωστική δοκιμασία δεν μπορεί να εγγυηθεί απόλυτα την απουσία μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικό. Ο χειρισμός όλων των αντιδραστηρίων και όλων των δειγμάτων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τα καθιερωμένα πρότυπα ασφαλείας που εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

Απόρριψη υπολειμμάτων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και τα strip που έχουν χρησιμοποιηθεί πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσματικά απόβλητα και επομένως να απορρίπτονται σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία.

Προφυλάξεις ατομικής προστασίας

1. Μην χρησιμοποιείτε την πιπέτα με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά για τα μάτια κατά τον χειρισμό των δειγμάτων.
3. Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τις συσκευές στον αναλυτή CHORUS TRIO.
4. Για τις απαιτήσεις ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιλαμβάνονται στο κιτ, ανατρέξτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).
5. Τα εξουδετερωμένα οξέα και τα άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται με προσθήκη επαρκούς όγκου υποχλωριώδους νατρίου, ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θεωρείται επαρκής για να διασφαλιστεί αποτελεσματική απολύμανση.
6. Εάν χυθούν υλικά που ενδέχεται να είναι μολυσμένα, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, π.χ. με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν συνεχιστεί η διαδικασία. Εάν τα υλικά που θα χυθούν περιέχουν οξύ, δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί υποχλωριώδες νάτριο πριν στεγνώσει η περιοχή.

Όλα τα υλικά που θα χρησιμοποιηθούν για να απολυμανθούν χυμένα υγρά, μαζί με τα γάντια, θα πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην τοποθετείτε στο αυτόκαυστο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Προειδοποιήσεις για την αναλυτική διαδικασία

Οι συσκευές που θα χρησιμοποιηθούν πρέπει να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) πριν από τη χρήση, και να χρησιμοποιηθούν μέσα σε 60 λεπτά.

1. Απορρίψτε τις συσκευές όπου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) έχει χρώμα μπλε.
2. Αφού προσθέσετε το δείγμα στην κυψελίδα, βεβαιωθείτε ότι έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευής και βεβαιωθείτε ότι όντως περιλαμβάνει όλα τα απαιτούμενα αντιδραστήρια. Εάν κατά τον οπτικό έλεγχο διαπιστώσετε ότι από τη συσκευή λείπει κάποιο αντιδραστήριο και/ή υπάρχουν ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης, μη χρησιμοποιήσετε τη συγκεκριμένη συσκευή.
4. Οι συσκευές πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τον αναλυτή CHORUS TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή.

Επιτρέπεται η χρήση του kit μόνο με ενημερωμένη έκδοση του λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που είναι εγκατεστημένο στον αναλυτή ανήκει στην ίδια ή μεταγενέστερη έκδοση (Rel.) από την έκδοση που αναφέρεται στον ιστότοπο της Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

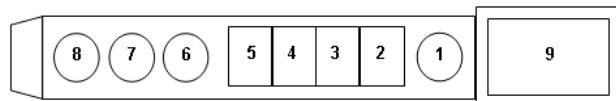
5. Βεβαιωθείτε ότι ο αναλυτής CHORUS TRIO είναι ρυθμισμένος σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Λειτουργίας).
6. Μην αλλοιώνετε το barcode που υπάρχει στη λαβή της συσκευής, ώστε ο αναλυτής να μπορεί να διαβάσει σωστά τον κωδικό.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για τη συντήρηση των δειγμάτων.
8. Ελαττωματικοί γραμμοκωδικοί μπορούν να καταχωριστούν στον αναλυτή με πληκτρολόγηση (βλ. Εγχειρίδιο Λειτουργίας).
9. Οι συσκευές δεν πρέπει να εκτίθενται σε δυνατό φως ούτε σε ατμούς υποχλωριώδους κατά τη φύλαξη ή τη χρήση.
10. Εάν χρησιμοποιηθούν έντονα αιμολυμένα, λιπαιμικά ή ικτερικά δείγματα, ή δείγματα ορού που δεν έχει πήξει τελείως, ή δείγματα με μικροβιακή μόλυνση, μπορεί να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα.
11. Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν μετά την ημερομηνία λήξης.
12. Βεβαιωθείτε ότι ο αναλυτής είναι συνδεδεμένος με το διάλυμα έκπλυσης (Washing Buffer κωδ. 83606).

5. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΟΥ KIT ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit επαρκεί για 36 δοκιμασίες προσδιορισμού.

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ 6 πακέτα με 6 συσκευές το καθένα

Περιγραφή:



Θέση 9: Χώρος για ετικέτα με γραμμοκωδικό

Θέση 8: ΛΥΟΦΙΛΙΩΜΕΝΟ ΑΝΤΙΓΟΝΟ

Περιεχόμενο: ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη NS1 ιού Zika.

Θέση 7: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαίσθητοποιημένη με ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IgM

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαίσθητοποιημένη

Θέση 5: ΔΙΑΛΥΜΑ ΤΕΡΜΑΤΙΣΜΟΥ

Διάλυμα θειικού οξέος 0,3 M.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη σταθεροποιημένη σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών

Θέση 3: ΑΡΑΙΩΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Περιεχόμενο: Πρωτεϊνικό διάλυμα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, με αζίδιο του νατρίου 0,09% και χρωστική.

Θέση 2: ΣΥΖΕΥΓΜΑ

Περιεχόμενο: μονοκλωνικά αντισώματα έναντι ιού Zika σημασμένα με υπεροξειδάση, σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει πρωτεΐνες και φαινόλη 0,01%.

Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Εδώ τοποθετείται το δείγμα.

Χρήση: εξισορροπήστε μια συσκευασία σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα και αφαιρέστε όλες τις συσκευές απαιτούμενες. Ξανατοποθετήστε τις υπόλοιπες συσκευές στη σακούλα που περιέχει πυριτική γέλη, αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε**, πιέζοντας τη σφράγιση. Φυλάσσεται στους 2-8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ

1 x 0,450 ml

Περιεχόμενο: πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει πρωτεΐνες με ικανότητα ειδικής δέσμευσης στερεάς φάσης και ανοσοσυμπλέγματος, και συντηρητικό.

Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ

1 x 0,900 ml

Περιεχόμενο: πρωτεϊνικό διάλυμα που περιέχει πρωτεΐνες με ικανότητα ειδικής δέσμευσης στερεάς φάσης και ανοσοσυμπλέγματος, και συντηρητικό.

Υγρό, έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΑ ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ, ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Αναλυτής CHORUS TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνήθης γυάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες κ.λπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια 50-200 μl διαλύματος.
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Περιέκτες για την περισυλλογή δυνητικά μολυσματικών υλικών

6. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C. Αν έχουν φυλαχθεί σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναλαμβάνεται η βαθμονόμηση και να ελέγχεται η ορθότητα του αποτελέσματος με ανάλυση του ορού ελέγχου (βλ. ενότητα 9: Επικύρωση του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης αναγράφεται σε κάθε επιμέρους στοιχείο και στην εξωτερική επικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα και/ή μετά την προετοιμασία:

ΣΥΣΚΕΥΕΣ	8 εβδομάδες στους 2-8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες στους 2-8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ	8 εβδομάδες στους 2-8°C

7. ΤΥΠΟΙ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Ο ενδεδωγμένος τύπος δείγματος είναι ορός που λαμβάνεται από αίμα το οποίο έχει συλλεχθεί με τυπική φλεβοπαρακέντηση και έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με τις τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες.

Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις εάν χρησιμοποιηθούν άλλα βιολογικά υγρά.

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 5 ημέρες στους 2-8°C. Για μεγαλύτερα διαστήματα συντήρησης, να καταψύχεται στους -20°C.

Να αποφεύγεται η επανειλημμένη απόψυξη.

Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για τη συντήρηση των δειγμάτων. Μετά την απόψυξη, ανακινήστε το δείγμα προσεκτικά πριν από τη δοσομέτρηση.

Η αδρανοποίηση με θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Η μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την ποιότητα του δείγματος, με αποτέλεσμα να προκύψουν λανθασμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Το τεστ CHORUS Zika IgM Capture (REF. 81161) μπορεί να εκτελεστεί ταυτόχρονα ΜΟΝΟ με τα ακόλουθα κιτ:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	REF 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgA CAPTURE	REF 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	REF 81042
CHORUS ZIKA IgG	REF 81158
CHORUS ZIKA NS1	REF 81159

1. Ανοίξτε τη σακούλα (από την πλευρά που βρίσκεται η πιεζόμενη σφράγιση), αφαιρέστε όλες τις συσκευές χρειάζεστε για τη διεξαγωγή των εξετάσεων και φυλάξτε τις υπόλοιπες κλείνοντας τη σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση της συσκευής, σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα 4. «Προεידωποιήσεις για την αναλυτική διαδικασία».
3. Στην κυψελίδα αρ. 1 κάθε συσκευής, προσθέστε:

ΔΕΙΓΜΑ	50 μl/συσκευή
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	130 μl/συσκευή
ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ	130 μl/συσκευή

Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιείτε μία συσκευή για τον βαθμονομητή.

4. Τοποθετήστε τις συσκευές στον αναλυτή CHORUS TRIO. Εκτελέστε τη βαθμονόμηση (εάν απαιτείται) και το τεστ όπως περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή.

9. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον θετικό ορό ελέγχου για να επαληθεύσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή. Αν ο αναλυτής δείξει ότι η τιμή του ορού ελέγχου βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, θα πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, επικοινωνήστε με το τμήμα επιστημονικής υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Ο αναλυτής CHORUS TRIO εμφανίζει το αποτέλεσμα ως Δείκτη (Index) (OD δείγματος/OD ορού cut-off).

Το αποτέλεσμα του τεστ για τον εξεταζόμενο ορό μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 1,1
ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 0,9
ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα είναι μεταξύ 0,9 και 1,1

Αν το αποτέλεσμα είναι ασαφές, επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει ασαφές, επαναλάβετε τη δειγματοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Κάθε τιμή που λαμβάνεται πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά, λαμβάνοντας υπόψη και άλλους δείκτες που σχετίζονται με τον εκάστοτε ασθενή.

Η κλινική διάγνωση δεν μπορεί να βασίζεται αποκλειστικά στο αποτέλεσμα του τεστ, το οποίο θα πρέπει πάντα αξιολογείται σε συνδυασμό με δεδομένα από το ιστορικό του ασθενή και/ή από άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

12. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Εξετάστηκαν 5 δείγματα (2 αρνητικά, 1 Cut-Off και 2 θετικά), στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

Ρευματοειδής παράγοντας (44-220 IU/mL)
Χολερυθρίνη (4,5-45 mg/dL)
Τριγλυκερίδια (10-250 mg/dL)
Αιμοσφαιρίνη (5-30 mg/mL)

Η παρουσία των ανωτέρω ουσιών παρεμβολής στον εξεταζόμενο ορό δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα του τεστ.

13. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Εξετάστηκαν 22 δείγματα, θετικά για ιό Δάγκειου Πυρετού (12) και ιό Δυτικού Νείλου (10).

Διαπιστώθηκαν διασταυρούμενες αντιδράσεις μόνο με 2 δείγματα θετικά για ιό Δυτικού Νείλου.

14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Στο πλαίσιο πειραματικής μελέτης, αναλύθηκαν 159 δείγματα με το kit της Diesse και με ένα άλλο kit διαθέσιμο στο εμπόριο.

Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται παρακάτω:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	14	2	16
	-	1	142	143
	Σύνολο	15	144	159

Ποσοστό συμφωνίας θετικών (~ διαγνωστική ευαισθησία): 93,3
CI_{95%}: 70,0 – 98,7

Ποσοστό συμφωνίας αρνητικών (~ διαγνωστική ειδικότητα): 98,6
CI_{95%}: 95,1 – 99,6

Θετική προγνωστική αξία (PPV): 87,5 CI_{95%}: 82,4 – 92,6

Αρνητική προγνωστική αξία (NPV): 99,3 CI_{95%}: 98,0 – 100,0

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων καταδεικνύεται βέλτιστος, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 0,88.

15. ΠΙΣΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέση τιμή (Index)	CV%	Μέση τιμή (Index)	CV%
1	4,2	11,9	4,0	14,5
2	0,4	15,0	0,3	13,3
3	0,3	13,3	0,3	3,3
4	1,1	10,9	1,1	10,9
5	1,7	14,7	1,8	12,8

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ αναλυτών	
	Μέση τιμή (Index)	CV%	Μέση τιμή (Index)	CV%
1	4,2	13,9	4,1	14,6
2	0,4	13,4	0,4	12,5
3	0,4	12,4	0,4	15,0
4	1,0	7,4	1,1	11,8
5	1,8	13,2	1,9	12,6

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16
3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581
4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Zika IgM Capture

Para la determinación cualitativa de anticuerpos de clase IgM contra el virus Zika

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de anticuerpos de clase IgM contra el virus Zika en suero humano con dispositivo de un solo uso aplicado a los equipos CHORUS TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

El virus Zika es un Arbovirus perteneciente al género Flavivirus, de la familia Flaviviridae, transmitido por mosquitos Aedes, pero que, a diferencia de los demás arbovirus, puede transmitirse durante las relaciones sexuales y por vía vertical de la madre al feto, a través de la placenta y el líquido amniótico, con los consiguientes efectos teratogénicos sobre el embrión: la falta de mecanismos de prevención frente al ZIKV convierte a este patógeno en una causa reemergente de infecciones congénitas. Una epidemia importante es la que ocurrió en 2015 en Brasil: en 2016 el comité de emergencia del Reglamento Sanitario Internacional de la OMS declaró la infección por el virus Zika una emergencia de salud pública internacional. La enfermedad por el virus Zika es una enfermedad viral aguda con manifestaciones clínicas similares a las del Dengue, que tiende a autorresolverse en un plazo de 4 a 6 días. Sin embargo, lo que convierte al virus Zika en una amenaza para la salud humana son las complicaciones neurológicas, principal causa de discapacidad y muerte inducida por este patógeno. La detección directa del virus o de sus componentes (NS1) solo es posible durante la viremia (máximo 1 semana); los anticuerpos específicos son claramente detectables unos días después del inicio de los síntomas. La detección de anticuerpos IgM específicos o un aumento significativo en el título de IgG específicas es una prueba de infección aguda por el virus ZIKV. Cabe destacar las posibles reacciones cruzadas con otros flavivirus, como el dengue, el Nilo occidental, la fiebre amarilla o el virus TBE.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo CHORUS Zika IgM Capture está listo para su uso y sirve para la determinación de anticuerpos IgM contra el virus Zika, en los equipos CHORUS TRIO.

La prueba está basada en la técnica ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) de captura. Los anticuerpos monoclonales anti-IgM humanas se unen a la fase sólida. Las inmunoglobulinas IgM se unen a los anticuerpos anti-IgM tras la incubación de la muestra diluida.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el antígeno

NS1 Zika unido a anticuerpos monoclonales específicos contra el virus Zika, conjugados con peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se ha unido se elimina y se añade el sustrato para la peroxidasa.

Después se inhibe la reacción enzimática mediante la incorporación de solución inhibidora, que hace que la solución adquiera un color

amarillo. El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en el suero analizado.

Los productos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos CHORUS TRIO.

Los resultados se expresan en Index (OD muestra/OD cut-off).

4. PRECAUCIONES

SOLO PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados para la presencia de HBsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los reactivos y las muestras deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y, por consiguiente, deben desecharse conforme a lo establecido en la legislación vigente.

Advertencias para la seguridad personal

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo CHORUS TRIO.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de Seguridad (disponible a solicitud).
5. Para limpiar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Una sola exposición a la solución de hipoclorito de sodio al 1 % de 30 minutos de duración debería bastar para garantizar una desinfección eficaz.
6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si hay ácido, no deberá utilizarse hipoclorito de sodio hasta que se haya secado la zona.

Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames accidentales, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos.

No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar los dispositivos que se vayan a utilizar a temperatura ambiente (18-30 °C) y usarlos en 60 minutos.

1. **Descartar los productos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Verificar la existencia de reactivos en el dispositivo y la integridad de este. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de reactivos o la existencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción durante la inspección visual.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo CHORUS TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.

El kit solo se puede utilizar con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que puede consultarse en el sitio web de Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

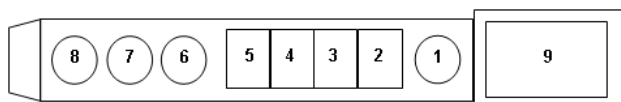
5. Comprobar que el equipo CHORUS TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. Puede ser fuente de error el uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el equipo esté conectado al tampón de lavado (ref. 83606)**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



Posición 9: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 8: ANTÍGENO LIOFÍLICO

Contenido: Proteína recombinante NS1 del virus Zika.

Posición 7: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anticuerpos monoclonales anti-IgM humanas

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado

Posición 5: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Solución de ácido sulfúrico 0,3 M.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina estabilizada en tampón citrato.

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas en tampón fosfato con azida sódica al 0,09 % y colorante.

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales contra el virus Zika marcados con peroxidasa, en solución tampón fosfato que contiene proteínas y fenol al 0,1 %.

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde se transfiere la muestra.

Uso: dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente, abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,450 ml

Contenido: solución proteica que contiene proteínas capaces de unir de manera específica la fase sólida y el complejo inmune, y conservante.

Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,900 ml

Contenido: solución proteica que contiene proteínas capaces de unir de manera específica la fase sólida y el complejo inmune, y conservante.

Líquido, listo para su uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO:

- WASHING BUFFER **REF.** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF.** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF.** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF.** 83607
- Equipo CHORUS TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio al 5 %
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado es correcto mediante el suero de control (ver capítulo 9: Validación de la prueba).

La fecha de caducidad aparece en cada componente y en la etiqueta del exterior del envase.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada una vez que se abren o preparan:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C
CONTROL POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8 °C durante 5 días; para conservaciones más largas congelar a -20 °C.

Evitar descongelaciones repetidas.

Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

La inactivación por calor puede conducir a resultados erróneos. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

La prueba CHORUS Zika IgM Capture (REF. 81161) se puede realizar simultáneamente SOLO con los siguientes kits:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	REF. 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgA CAPTURE	REF. 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	REF. 81042
CHORUS ZIKA IgG	REF. 81158
CHORUS ZIKA NS1	REF. 81159

1. Abrir la bolsa (lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
3. Dispensar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo:

MUESTRA	50 µl/dispositivo
CALIBRADOR	130 µl/dispositivo
CONTROL POSITIVO	130 µl/dispositivo

Utilizar un dispositivo para el calibrador cada vez que se cambie de lote.

4. Introducir los dispositivos en el equipo CHORUS TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según las indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario volver a realizar la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, ponerse en contacto con Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605

e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El equipo CHORUS TRIO proporciona el resultado en Index (OD muestra/OD cut-off).

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es >1,1

NEGATIVO: cuando el resultado es <0,9

AMBIGUO: cuando el resultado está comprendido entre 0,9 y 1,1

En caso de resultado ambiguo se aconseja repetir la prueba. Si el resultado sigue siendo ambiguo, repetir la extracción.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Todos los valores obtenidos deben interpretarse con atención, sin prescindir de otros indicadores del mismo paciente.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Fueron analizadas 5 muestras (2 Negativas, 1 en Cut-Off y 2 Positivas) a las que se añadieron los siguientes interferentes:

Factor reumatoide (44-220 UI/ml)

Bilirrubina (4,5-45 mg/dl)

Triglicéridos (10-250 mg/dl)

Hemoglobina (5-30 mg/ml)

La presencia de las mencionadas sustancias interferentes en el suero no altera el resultado de la prueba.

13. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 22 muestras positivas para Dengue (12) y Nilo Occidental (10).

Solo se detectaron reacciones cruzadas con 2 muestras positivas para el virus del Nilo Occidental.

14. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 159 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	14	2	16
	-	1	142	143
	Total	15	144	159

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica): 93,3 CI₉₅ %: 70,0 – 98,7

Porcentaje de concordancia negativa (~ especificidad diagnóstica):

98,6 CI₉₅ %: 95,1 – 99,6

Valor predictivo positivo (VPP): 87,5 CI₉₅ %: 82,4 – 92,6

Valor predictivo negativo (VPN): 99,3 CI₉₅ %: 98,0 – 100,0

El grado de concordancia entre ambos métodos es óptimo con un valor K (Coeficiente de Cohen) de 0,88.

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media (Index)	CV %	Media (Index)	CV %
1	4,2	11,9	4,0	14,5
2	0,4	15,0	0,3	13,3
3	0,3	13,3	0,3	3,3
4	1,1	10,9	1,1	10,9
5	1,7	14,7	1,8	12,8

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (Index)	CV %	Media (Index)	CV %
1	4,2	13,9	4,1	14,6
2	0,4	13,4	0,4	12,5
3	0,4	12,4	0,4	15,0
4	1,0	7,4	1,1	11,8

5	1,8	13,2	1,9	12,6
---	-----	------	-----	------

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16
3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581
4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648



MODE D'EMPLOI

CHORUS Zika IgM Capture

Pour la détermination qualitative des anticorps de classe IgM anti-Zika virus

Uniquement pour diagnostic in vitro

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps de classe IgM anti-Zika virus dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux instruments CHORUS TRIO.

2. INTRODUCTION

Le virus Zika est un Arbovirus appartenant au genre Flavivirus, de la famille des Flaviviridae, transmis par les moustiques Aedes, mais qui, contrairement aux autres arbovirus, peut se transmettre lors des rapports sexuels et verticalement de la mère au fœtus, par le placenta et le liquide amniotique avec des effets tératogènes conséquents sur l'embryon : l'absence de mécanismes de prévention contre le ZIKV fait de ce pathogène une cause ré-émergente d'infections congénitales. Une épidémie importante s'est produite en 2015 au Brésil : en 2016, le comité d'urgence du Règlement sanitaire international de l'OMS a déclaré l'infection par le virus Zika une urgence de santé publique internationale. La maladie à virus Zika est une maladie virale aiguë aux manifestations cliniques similaires à celles de la Dengue, qui tend à se résoudre d'elle-même en 4/6 jours. Les complications neurologiques, principale cause d'invalidité et de décès induites par ce pathogène, font cependant du virus Zika une menace pour la santé humaine. La détection directe du virus ou des composants du virus (NS1) n'est possible que pendant la virémie (maximum 1 semaine) ; des anticorps spécifiques sont clairement détectables quelques jours après le début des symptômes. La détection d'anticorps IgM spécifiques ou une augmentation significative du titre d'IgG spécifiques est la preuve d'une infection aiguë au ZIKV. Les réactions croisées possibles avec d'autres flavivirus, tels que le virus de la Dengue, du Nil occidental, de la fièvre jaune ou de la TBE, doivent être soulignées.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif CHORUS Zika IgM est prêt à l'emploi pour la détermination des anticorps IgM anti-virus Zika avec les instruments CHORUS TRIO.

Le test repose sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, à savoir un dosage immuno-enzymatique sur support solide) à capture. Les anticorps monoclonaux anti-IgM d'origine humaine sont liés à la phase solide. Les immunoglobulines IgM se lient aux anticorps anti-IgM après incubation avec un échantillon dilué.

A l'issue de lavages pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, une incubation est réalisée avec l'antigène NS1 Zika lié à

des anticorps monoclonaux spécifiques anti-virus Zika, conjugués à de la peroxydase de raifort.

Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

La réaction enzymatique est ensuite bloquée en ajoutant la solution de blocage qui fait virer la solution au jaune. La coloration qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques présents dans le sérum examiné.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs nécessaires à l'exécution du test lorsqu'ils sont appliqués sur les instruments CHORUS TRIO.

Les résultats sont exprimés en indice (DO de l'échantillon/DO du cut-off).

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR LE DIAGNOSTIC IN VITRO.

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et jugées négatives lors de tests approuvés pour la recherche de HbsAg et des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme étant potentiellement infectée. Tous les réactifs et les échantillons doivent être manipulés conformément aux normes de sécurité habituellement adoptées par le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des déchets infectieux. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements relatifs à la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'analyseur CHORUS TRIO.
4. Consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur demande) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
5. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium afin d'obtenir une concentration finale de 1 % minimum. Une exposition à 1 % d'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes devrait suffire à garantir une désinfection efficace.
6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium.

Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels déversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé.

Ne pas mettre placer de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium en autoclave.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+18-30 °C) et utiliser dans les 60 minutes.

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puits.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier. Ne pas utiliser les dispositifs qui, d'après inspection visuelle, manquent d'un quelconque réactif et/ou présentent des corps étrangers dans le puits de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'analyseur CHORUS TRIO, en respectant scrupuleusement le Mode d'emploi et le Manuel de l'Utilisateur de l'analyseur.
Le kit peut uniquement être utilisé avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que la version du logiciel installé sur l'instrument est au moins égale, voire supérieure, à celle indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. S'assurer que l'analyseur CHORUS TRIO est réglé correctement (voir le Manuel de l'Utilisateur).
6. Ne pas altérer le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'analyseur puisse le lire correctement.
7. Éviter l'emploi de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'analyseur (voir Manuel de l'utilisateur).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, lipidiques, jaunâtres, de sérum qui ne sont pas complètement coagulés ou présentent une pollution microbienne peut être à la source d'erreur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
12. **Contrôler que l'instrument est connecté au tampon de lavage (RÉF 83606)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations

DD DISPOSITIFS 6 conditionnements de 6 dispositifs chacun

Description :



Position 9 : Emplacement disponible pour l'étiquette avec code à barres

Position 8 : ANTIGÈNE LYOPHILE

Contenu : protéine recombinante virus NS1 Zika.

Position 7 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé aux anticorps monoclonaux anti-IgM d'origine humaine

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé

Position 5 : SOLUTION BLOQUANTE

Solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine stabilisé dans un tampon citrate

Position 3 : DILUANT POUR ÉCHANTILLONS

Contenu : Solution protéique dans un tampon de phosphate avec 0,09 % d'azide de sodium et un colorant.

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : anticorps monoclonaux anti-virus Zika marqués à la peroxydase, dans une solution tampon protéines et phénol (0,1 %).

Position 1 : PUIITS VIDE

Où l'échantillon a été transféré.

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et replacer ceux non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice ; chasser l'air et fermer **hermétiquement** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver entre 2 et 8 °C.

CALIBRATOR CALIBREUR 1 x 0,450 ml

Contenu : solution protéique contenant des protéines en mesure de lier de manière spécifique phase solide et complexe immunitaire, et conservateur

Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,900 ml

Contenu : solution protéique contenant des protéines en mesure de lier de manière spécifique phase solide et complexe immunitaire, et conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS ET NON FOURNI :

- TAMPON DE LAVAGE **RÉF.** 83606
- SOLUTION DE NETTOYAGE 2000 **RÉF.** 83609
- SOLUTION DÉSINFECTANTE **RÉF.** 83604 - 83608
- CONTRÔLE NÉGATIF CHORUS / DILUANT D'ÉCHANTILLONS **RÉF.** 83607
- Analyseur CHORUS TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre standard : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes en mesure de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µL.
- Gants jetables
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour le recueil de matières potentiellement infectées

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Conserver les réactifs entre 2 et 8° C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler la fiabilité du résultat à l'aide de sérum de contrôle (voir chapitre 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation :

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
CALIBREUR	8 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

Les échantillons sont des sérums préparés à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse et préparés selon les procédures standards de laboratoire.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé pendant 5 jours entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à - 20 °C.

Éviter les décongelations répétées.

Éviter l'emploi de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongelation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

L'inactivation par la chaleur peut donner des résultats erronés.

La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence d'une contamination microbienne qui peut induire de faux résultats.

8. PROCÉDURE

Le test CHORUS Zika IgM Capture (RÉF. 81161) peut être effectué simultanément UNIQUEMENT avec les kits suivants :

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	RÉF. 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgG CAPTURE	RÉF. 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	RÉF. 81042
CHORUS ZIKA IgG	RÉF. 81158
CHORUS ZIKA NS1	RÉF. 81159

- Ouvrir le sachet (du côté de la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet fermé après avoir expulsé l'air.
- Contrôler l'état du dispositif à l'œil nu comme indiqué au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
- Distribuer dans le puits n°1 de chaque appareil :

ÉCHANTILLON	50 µl/dispositif
CALIBREUR	130 µl/dispositif
CONTRÔLE POSITIF	130 µl/dispositif

Utiliser un dispositif pour le calibre à chaque changement de lot.

- Introduire les dispositifs dans l'analyseur CHORUS TRIO. Effectuer le calibrage (si requis) et le test comme indiqué dans le Manuel de l'utilisateur de l'analyseur.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en le traitant comme indiqué dans le Manuel de l'utilisateur de l'analyseur. Si l'analyseur signale que le sérum de contrôle a une valeur hors tolérance, il est nécessaire d'effectuer un nouveau calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du contrôle est encore hors tolérance, contacter l'Assistance Scientifique.

Tél. 0039 0577 319554
Fax 0039 0577 366605
adresse scientifisupport@diesse.it
mail :

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'instrument CHORUS TRIO fournit le résultat sous forme d'indice (DO de l'échantillon/DO du cut-off).

Le test sur le sérum analysé peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est > 1,1

NÉGATIF : lorsque le résultat est < 0,9

AMBIGU : lorsque le résultat est compris entre 0,9 et 1,1

En cas de résultat ambigu, répéter le test. Si le résultat reste ambigu, répéter le prélèvement.

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues requièrent une interprétation attentive prenant en compte d'autres indicateurs relatifs au patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué avec les données de l'anamnèse du patient et/ou les données d'autres investigations diagnostiques.

12. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

5 échantillons ont été testés (2 négatifs, 1 au Cut-Off et 2 positifs) auxquels ont été ajoutés les substances interférentes suivantes :

Facteur rhumatoïde (44-220 UI/ml)
Bilirubine (4,5-45 mg/dl)
Triglycérides (10-250 mg/dl)
Hémoglobine (5-30 mg/ml)

La présence dans le sérum examiné des substances interférentes susmentionnées n'altère pas le résultat du test.

13. RÉACTIONS CROISÉES

22 échantillons positifs, au virus de la Dengue (12) et du Nil occidental (10) ont été testés.

Des réactions croisées n'ont été détectées qu'avec 2 échantillons positifs pour le virus du Nil occidental.

14. ÉTUDES COMPARATIVES

Lors d'une étude, 159 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit commercial.

Les résultats de l'étude sont résumés ci-dessous :

		Prédicat		
		+	-	Total
Diesse	+	14	2	16
	-	1	142	143
	Total	15	144	159

Taux de concordance positive (~ sensibilité diagnostique) : 93,3
CI₉₅ %: 70,0 – 98,7

Taux de concordance négative : (~ spécificité diagnostique) : 98,6
CI₉₅ %: 95,1 – 99,6

Valeur prédictive positive (PPV) : 87,5 CI₉₅ %: 82,4 – 92,6

Valeur prédictive négative (NPV) : 99,3 CI₉₅ % : 98,0 – 100,0

Le degré de concordance entre les deux méthodes s'avère optimal avec une valeur K (Coefficient de Cohen) de 0,88.

15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance		Inter-séances	
	Moyenne (Indice)	CV %	Moyenne (Indice)	CV %
1	4,2	11,9	4,0	14,5
2	0,4	15,0	0,3	13,3
3	0,3	13,3	0,3	3,3
4	1,1	10,9	1,1	10,9
5	1,7	14,7	1,8	12,8

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne (Indice)	CV %	Moyenne (Indice)	CV %
1	4,2	13,9	4,1	14,6
2	0,4	13,4	0,4	12,5
3	0,4	12,4	0,4	15,0

4	1,0	7,4	1,1	11,8
5	1,8	13,2	1,9	12,6

16. BIBLIOGRAPHIE

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16
3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581
4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS Zika IgM Capture

Para a determinação qualitativa dos anticorpos da classe IgM anti-Zika vírus

Apenas para uso diagnóstico in vitro

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa dos anticorpos da classe IgM anti-Zika vírus em soro humano com dispositivo de utilização única aplicado aos instrumentos CHORUS TRIO.

2. INTRODUÇÃO

O vírus Zika é um Arbovírus pertencente ao gênero Flavivirus, da família Flaviviridae, transmitido pelos mosquitos Aedes, que ao contrário de outros arbovírus, pode ser transmitido durante as relações sexuais e verticalmente da mãe para o feto, através da placenta e do líquido amniótico, com consequentes efeitos teratogênicos sobre o embrião: a falta de mecanismos de prevenção contra o vírus Zika faz deste agente patogênico uma causa reemergente de infecções congênitas. Um surto importante ocorreu no Brasil em 2015; em 2016, o Comitê de Emergência do Regulamento Sanitário Internacional da OMS declarou a infecção pelo vírus Zika uma emergência de saúde pública internacional. A doença do vírus Zika é uma doença viral aguda com manifestações clínicas semelhantes às da Dengue, que tende a resolver-se de forma autônoma no prazo de 4 a 6 dias. O que torna o vírus Zika uma ameaça para a saúde humana, no entanto, são as complicações neurológicas, principal causa de incapacidade e morte induzida por este agente patogênico. A detecção direta do vírus ou dos componentes do vírus (NS1) só é possível durante a viremia (máximo 1 semana); os anticorpos específicos são claramente detectáveis alguns dias após o início dos sintomas. A detecção de anticorpos IgM específicos ou um aumento significativo do título de IgG específico é prova de uma infecção aguda pelo vírus Zika. Devem ser notadas possíveis reações cruzadas com outros flavivírus, tais como o vírus da Dengue, vírus do Nilo Ocidental, Febre Amarela ou vírus TBE.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo CHORUS Zika IgM Capture está pronto a usar para determinação dos anticorpos IgM anti-vírus Zika, nos instrumentos CHORUS TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) com captura. Os anticorpos monoclonais anti-IgM humanos são ligados à fase sólida. As imunoglobulinas IgM ligam-se aos anticorpos anti-IgM após incubação com amostra diluída.

Após as lavagens para eliminar as proteínas que não tenham reagido, realiza-se a incubação com antígeno NS1 Zika ligado a anticorpos específicos monoclonais anti-Zika vírus, conjugados com peroxidase de rábano.

Elimina-se o conjugado não ligado e adiciona-se o substrato para a peroxidase.

A reação enzimática é posteriormente bloqueada pela adição da Solução Bloqueadora que torna a solução amarela. A cor azul que se desenvolve é proporcional à concentração de anticorpos específicos presentes no soro de teste.

Os dispositivos de utilização única contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos CHORUS TRIO.

Os resultados são expressos em Índice (OD amostra/OD cut-off).

4. PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contém materiais de origem humana testados e negativos ao HBsAg e aos anticorpos anti-VIH 1, anti-VIH 2 e anti-VHC. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infectado. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação dos resíduos: amostras de soro, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infectados e, portanto, eliminados de acordo com as normas de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a ficha de segurança (disponível a pedido).
5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Exposição a hipoclorito de sódio a 1%, durante 30 minutos, deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infectado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se houver algum ácido presente, o hipoclorito de sódio não deve ser usado antes da referida área estar seca.
Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infectados.
Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes de utilizar, por à temperatura ambiente (18-30 °C) os dispositivos que vão ser usados e utilizar dentro de 60 minutos.

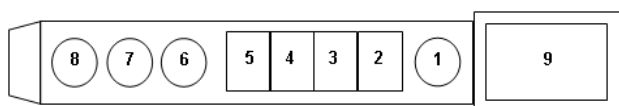
1. **Descartar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva de reagentes no dispositivo e a integridade deste último. Não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.
O uso do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou é superior à Release (Rel.) mostrada na tabela publicada no site da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras imperfeitos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade.
12. **Verificar se o instrumento tem ligação estabelecida com a Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 9: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 8: ANTIGÊNIO LIÓFILO

Conteúdo: proteína NS1 recombinante do vírus Zika.

Posição 7: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com anticorpos monoclonais anti-IgM humanos

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado

Posição 5: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina estabilizada em tampão citrato

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: Solução proteica em tampão fosfato com Azida de Sódio a 0,09% e corante.

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-Zika vírus marcados com peroxidase, em solução tampão de fosfato contendo proteínas e fenol 0,1%.

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde a amostra é transferida.

Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém sílica-gel, expulsar o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,450 ml

Conteúdo: solução proteica que contém proteínas capazes de ligar de forma específica fase sólida e imunocomplexo, e conservante

Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,900 ml

Conteúdo: solução proteica que contém proteínas capazes de ligar de forma específica fase sólida e imunocomplexo, e conservante.

Líquido, pronto a usar.

OUTRO MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumento CHORUS TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infectados

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados a 2/8°C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do soro de controlo (ver capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo exterior da embalagem.

Após abertura e/ou preparação, os reagentes têm estabilidade limitada:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro, obtido de sangue colhido por venipuntura e manuseado de acordo com os procedimentos laboratoriais normalizados.

Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

O soro fresco pode ser conservado durante 5 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20 °C.

Evitar descongelações repetidas.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

A inativação por calor poderá levar a resultados errados.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação microbiana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

O teste CHORUS Zika IgM Capture (REF. 81161) pode ser realizado em simultâneo SOMENTE com os seguintes kits:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	REF 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgA CAPTURE	REF 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	REF 81042
CHORUS ZIKA IgG	REF 81158
CHORUS ZIKA NS1	REF 81159

1. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para realizar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após a expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo:

AMOSTRA	50 µl/dispositivo
CALIBRADOR	130 µl/dispositivo
CONTROLO POSITIVO	130 µl/dispositivo

A cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.

4. Introduzir os dispositivos no instrumento CHORUS TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste como indicado no Manual do Utilizador do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro controlo positivo, para verificar a exatidão do resultado obtido, processando-o como indicado no Manual do Utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o soro de controlo tem um valor fora do limite de aceitabilidade, é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controlo continuar a estar fora do intervalo de aceitabilidade, contactar a Assistência Científica.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento CHORUS TRIO fornece o resultado em Índice (OD amostra/OD cut-off).

O teste do soro em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for >1,1

NEGATIVO: quando o resultado for <0,9

INDETERMINADO: quando o resultado estiver entre 0,9 e 1,1

Se o resultado for indeterminado, repetir o teste. Se o resultado continuar indeterminado, repetir a colheita.

11. LIMITES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidadosa que não prescindia de outros indicadores relativos ao mesmo doente.

O teste, de facto, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo. O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto com os dados provenientes da anamnese do doente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 5 amostras (2 Negativas, 1 a Cut-Off e 2 Positivas) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (44-220 UI/mL)

Bilirrubina (4,5-45 mg/dL)

Triglicéridos (10-250 mg/dL)

Hemoglobina (5-30 mg/mL)

A presença das substâncias interferentes acima referidas no soro examinado não altera o resultado do teste.

13. REATIVIDADE CRUZADA

Foram testadas 22 amostras, positivas para Dengue (12) e vírus do Nilo Ocidental (10).

Foram detetadas reações cruzadas somente com 2 amostras positivas para vírus do Nilo Ocidental.

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 159 amostras com o kit Diesse e com outro kit comercializado.

A seguir são apresentados os resultados da experiência:

		Predicate		
		+	-	Total
Diesse	+	14	2	16
	-	1	142	143
	Total	15	144	159

Percentagem de concordância positiva (~ sensibilidade diagnóstica): 93,3 CI_{95%}: 70,0 – 98,7

Percentagem de concordância negativa (~ especificidade diagnóstica):

98,6 CI_{95%}: 95,1 – 99,6

Valor Preditivo Positivo (VPP): 87,5 CI_{95%}: 82,4 – 92,6

Valor Preditivo Negativo (VPN): 99,3 CI_{95%}: 98,0 – 100,0

O grau de concordância entre os dois métodos é ótimo com valor de K (Coeficiente de Cohen) igual a 0,88.

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (índice)	CV%	Média (índice)	CV%
1	4,2	11,9	4,0	14,5
2	0,4	15,0	0,3	13,3
3	0,3	13,3	0,3	3,3
4	1,1	10,9	1,1	10,9
5	1,7	14,7	1,8	12,8

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (índice)	CV%	Média (índice)	CV%
1	4,2	13,9	4,1	14,6
2	0,4	13,4	0,4	12,5
3	0,4	12,4	0,4	15,0
4	1,0	7,4	1,1	11,8
5	1,8	13,2	1,9	12,6

16. BIBLIOGRAFIA

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16
3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581
4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS Zika IgM Capture

**Pentru determinarea calitativă a anticorpilor
clasa IgM anti-Zika virus**

Numai pentru diagnosticarea in vitro

1. UTILIZARE

Metodă imunoenzimatică pentru determinarea calitativă a anticorpilor clasa IgM anti-Zika virus în ser uman cu ajutorul unui dispozitiv de unică folosință aplicat pe instrumentele CHORUS TRIO.

2. INTRODUCERE

Virusul Zika este un arbovirus aparținând genului Flavivirus, din familia Flaviviridae, transmis de țânțarii Aedes, dar, spre deosebire de alte arbovirusuri, se poate transmite în timpul actului sexual și pe verticală, de la mamă la făt, prin placenta și lichidul amniotic, cu efecte teratogene asupra embrionului: lipsa mecanismelor de prevenire împotriva ZIKV face ca acest agent patogen să fie o cauză re-emergentă de infecții congenitale. O epidemie majoră a avut loc în Brazilia în 2015: în 2016, comitetul de urgență al Regulamentului sanitar internațional al OMS a declarat infecția cu virusul Zika ca fiind o urgență de sănătate publică internațională. Boala provocată de virusul Zika este o boală virală acută cu manifestări clinice similare cu cele ale bolii Dengue, care tinde să se rezolve de la sine în 4 până la 6 zile. Ceea ce face ca virusul Zika să fie o amenințare pentru sănătatea umană sunt complicațiile neurologice, principala cauză de invaliditate și deces induse de acest agent patogen. Detectarea directă a virusului sau a componentelor virusului (NS1) este posibilă numai în timpul viremiei (maximum 1 săptămână); anticorpii specifici sunt clar detectați la câteva zile de la debutul simptomelor. Detectarea anticorpilor specifici IgM sau o creștere semnificativă a titrului de IgG specifici reprezintă dovada unei infecții acute cu ZIKV. Este necesar să se sublinieze posibilele reacții încrucișate cu alte flavivirusuri, cum ar fi Dengue, West Nile, Febra galbenă sau virusul TBE.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul CHORUS Zika IgG Capture este un dispozitiv gata de utilizare pentru determinarea anticorpilor IgM anti-Zika, care se va aplica în instrumentele CHORUS TRIO.

Testul se bazează pe principiul ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) prin capturare. Anticorpii monoclonali anti-IgM umane sunt legați de faza solidă. Imunoglobulinele IgM se leagă de anticorpii anti-IgM după incubare cu proba diluată.

După spălările efectuate pentru eliminarea proteinelor care nu au participat la reacție, se efectuează incubarea antigenului NS1 Zika legat de anticorpi monoclonali specifici, conjugați cu peroxidază din hrean.

Conjugatul nelegat este eliminat și se adaugă substratul pentru peroxidază.

Reacția enzimatică este blocată ulterior prin adăugarea soluției blocante care modifică culoarea soluției

în galben. Culoarea care se dezvoltă este proporțională cu concentrația de anticorpi specifici prezenți în proba de ser examinată.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii necesari pentru efectuarea testului atunci când sunt aplicate pe instrumentele CHORUS TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în Index (OD probă / OD cut-off).

4. MĂSURI DE PRECAUȚIE

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICAREA IN VITRO.

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și au indicat un rezultat negativ pentru prezența HBsAg și pentru anticorpii anti-HIV-1, anti-HIV-2 și anti-HCV, prin testarea cu ajutorul metodelor aprobate. Deoarece niciun test de diagnosticare nu poate oferi o garanție completă privind absența agenților infecțioși, orice material de origine umană trebuie să fie considerat potențial infectat. Toți reactivii și toate probele trebuie manipulate în conformitate cu normele de siguranță adoptate de obicei în laborator.

Eliminarea reziduurilor: probele de ser, calibroarele și benzile utilizate trebuie tratate ca și reziduuri infectate și eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
 2. În timpul manipulării probelor, purtați mănuși de unică folosință și ochelari de protecție.
 3. Spălați-vă bine pe mâini după introducerea dispozitivelor în instrumentul CHORUS TRIO.
 4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișele cu date de securitate (disponibile la cerere).
 5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate adăugând hipoclorit de sodiu în volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la o soluție de hipoclorit de sodiu de 1% timp de 30 de minute ar trebui să fie suficientă pentru a asigura o dezinfectare eficientă.
 6. Eventuale scurgeri de materiale potențial infectate trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu soluție de hipoclorit de sodiu de 1%, înainte de a continua activitatea. Dacă este prezent un acid, nu utilizați hipocloritul de sodiu înainte de uscarea zonei.
- Toate materialele utilizate pentru a decontamina scurgerile accidentale, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infectate.
- Nu așezați în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, așteptați ca dispozitivele care vor fi utilizate să ajungă la temperatura camerei (18-30 °C) și utilizați în interval de 60 de minute.

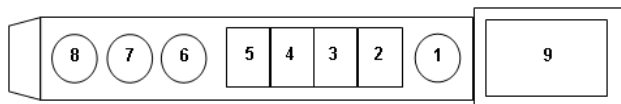
1. **Înlăturați dispozitivul cu substrat (godeul 4) de culoare albastră.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fundul godeului.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în sine. Nu folosiți dispozitive din care lipsesc reactivi și / sau dacă observați corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul CHORUS TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.
Utilizarea kit-ului este posibilă doar dacă este instalată versiunea actualizată a programului software. Asigurați-vă că programul software instalat pe instrument coincide sau are versiunea de lansare (Rel.) superioară celei prezentate în tabelul publicat pe website-ul DIESSE.
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Verificați dacă instrumentul CHORUS TRIO este setat corect (consultați Manualul utilizatorului).
6. Nu modificați codul de bare amplasat pe mânerul dispozitivului pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea de congelatoare cu sistem automat de decongelare pentru păstrarea probelor.
8. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (consultați Manualul utilizatorului).
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. Utilizarea probelor de ser foarte hemolizate, lipemice, icterice, care nu sunt complet coagulate sau a probelor care prezintă poluare microbiană poate fi o sursă de erori.
11. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
12. **Controlați ca instrumentul să fie conectat cu Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. ALCĂTUIREA KIT-ULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kit-ul este suficient pentru 36 de determinări

DD DISPOZITIVE 6 ambalaje a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 9: Spațiu disponibil pentru eticheta cu codul de bare

Poziția 8: ANTIGEN LIOFILIC

Conținut: proteină recombinantă NS1 Zika Virus.

Poziția 7: GODEU MICROPLACĂ

Sensibilizat cu anticorpi monoclonali specifici anti-IgM umane

Poziția 6: GODEU MICROPLACĂ

Nesensibilizat.

Poziția 5: SOLUȚIE BLOCANTĂ

Soluție de acid sulfuric 0,3 M.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidina stabilizată în tampon citrat.

Poziția 3: DILUANT PENTRU PROBE

Conținut: Soluție proteică în tampon fosfat cu azotură de sodiu 0,09% și colorant.

Poziția 2: CONJUGAT

Conținut: anticorpi monoclonali anti-Zika virus marcați cu peroxidază, în soluție tampon fosfat care conține proteine și fenol 0,1%.

Poziția 1: GODEU GOL

În care este transferată proba.

Utilizare: așteptați ca punga să ajungă la temperatura camerei, deschideți punga, luați dispozitivele necesare; așezați celelalte dispozitive în punga care conține silicagel, scoateți aerul din interior și **sigilați** apăsând pe elementul de închidere. A se păstra la 2/8°C.

CALIBROR CALIBROR 1 x 0,450 ml

Conținut: soluție proteică care conține proteine capabile să lege în mod specific faza solidă și imunocomplexul, și conservant Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,900 ml

Conținut: soluție proteică care conține proteine capabile să lege în mod specific faza solidă și imunocomplexul, și conservant Lichid, gata de utilizare.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NELIVRATE:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrument CHORUS TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticlărie obișnuită de laborator: cilindri, epruvete etc.
- Micropipete pentru prelevarea precisă a volumelor de 50-200 µl.
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de 5% de hipoclorit de sodiu
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate

6. MODALITATEA DE PĂSTRARE ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie depozitați la 2/8 °C. În cazul unei temperaturi de stocare incorecte, calibrarea trebuie repetată și trebuie verificată corectitudinea rezultatului folosind serul de control (vezi capitolul 9: Validarea testului).

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta externă a ambalajului.

Reactivii au o stabilitate limitată după deschidere și / sau preparare:

DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8°C
CALIBROR	8 săptămâni la 2/8°C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8°C

7. TIP DE PROBE ȘI PĂSTRARE

Tipul de probă este reprezentat de serul obținut din sângele colectat prin venipunctură obișnuită și manipulat în conformitate cu cerințele din procedurile standard de laborator.

Nu sunt cunoscute consecințele utilizării altor lichide biologice.

Serul proaspăt poate fi păstrat timp de 5 zile la temperatura de 2/8 °C; pentru perioade mai lungi de depozitare, se va congela la -20 °C.

Evitați decongelarea repetată.

Evitați utilizarea de congelatoare cu sistem automat de decongelare pentru păstrarea probelor. După decongelare, agitați proba cu atenție înainte de dozare.

Inactivarea la căldură poate da rezultate eronate.

Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate duce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA

Testul CHORUS Zika IgM Capture (REF. 81161) poate fi efectuat simultan NUMAI cu următoarele kituri:

CHORUS CYTOMEGALOVIRUS IgM CAPTURE	REF 81012
CHORUS TOXOPLASMA IgA CAPTURE	REF 81044
CHORUS TOXOPLASMA IgM CAPTURE	REF 81042
CHORUS ZIKA IgG	REF 81158
CHORUS ZIKA NS1	REF 81159

1. Deschideți plicul (latura pe care se află elementul de închidere prin apăsare), luați un număr de dispozitive necesar pentru a efectua examinările și păstrați-le pe celelalte închizând la loc plicul după ce scoateți aerul din interior.
2. Controlați vizual starea dispozitivului conform indicațiilor din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Distribuți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv:

PROBĂ	50 µl/dispozitiv
CALIBROR	130 µl/dispozitiv
CONTROL POZITIV	130 µl/dispozitiv

La fiecare schimbare a lotului, utilizați un dispozitiv pentru calibror.

4. Introduceți dispozitivele în instrumentul Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesară) și testul conform instrucțiunilor din Manualul de utilizare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați serul de control pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatului obținut, procesându-l conform instrucțiunilor din Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul indică faptul că serul de control are o valoare în afara limitei admisibile, trebuie să refaceți calibrarea. Rezultatele anterioare sunt corectate automat.

Dacă rezultatul serului de control este în continuare în afara intervalului admis, contactați Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA TESTULUI

Instrumentul CHORUS TRIO furnizează rezultatul în Index (OD probă / OD cut-off).

Testul efectuat pe serul examinat poate fi interpretat după cum urmează:

POZITIV: când rezultatul este > 1,1
NEGATIV: când rezultatul este < 0,9
ECHIVOC: când rezultatul este între 0,9 și 1,1

În cazul unui rezultat echivoc, repetați testul. Dacă rezultatul rămâne echivoc, repetați prelevarea.

11. LIMITELE TESTULUI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă care trebuie să ia în considerare alți indicatori referitori la pacient.

Testul nu poate fi utilizat ca unică metodă pentru un diagnostic clinic. Rezultatul obținut trebuie interpretat împreună cu alte date din istoricul pacientului și / sau alte metode de diagnosticare.

12. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 5 probe (2 Negative, 1 la Cut-Off și 2 Pozitive) la care au fost adăugate următoarele substanțe interferente:

Factor reumatoid (44-220 UI/ml)
Bilirubină (4,5-45 mg/dl)
Trigliceride (10-250 mg/dl)
Hemoglobină (5-30 mg/ml)

Prezența în serul testat a substanțelor interferente menționate mai sus nu modifică rezultatele testului.

13. REACTIVITATE ÎNCRUCIȘATĂ

Au fost testate 22 de probe, pozitive la Dengue (12) și West Nile (10).

Au fost detectate reacții încrucișate numai cu două probe pozitive la virusul West Nile.

14. STUDII COMPARATIVE

Într-un experiment, au fost analizate 159 de probe cu kitul Diesse și cu un alt kit de pe piață.

Datele obținute în urma experimentului sunt prezentate schematic mai jos:

		Predicat		
		+	-	Total
Diesse	+	14	2	16
	-	1	142	143
	Total	15	144	159

Procentul de concordanță pozitivă (~ sensibilitate diagnostică): 93,3 CI_{95%}: 70,0 – 98,7

Procentul de concordanță negativă (~ specificitatea diagnosticului):

98,6 CI_{95%}: 95,1 - 99,6

Valoare predictivă pozitivă (PPV): 87,5 CI_{95%}: 82,4 – 92,6

Valoare predictivă negativă (NPV): 99,3 CI_{95%}: 98,0 – 100,0

Gradul de corelație dintre cele două metode este optim, cu o valoare K (Coeficientul lui Cohen) de 0,88.

15. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În cadrul sesiunii		Între sesiuni	
	Medie (Index)	CV%	Medie (Index)	CV%
1	4,2	11,9	4,0	14,5
2	0,4	15,0	0,3	13,3
3	0,3	13,3	0,3	3,3
4	1,1	10,9	1,1	10,9
5	1,7	14,7	1,8	12,8

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Medie (Index)	CV%	Medie (Index)	CV%
1	4,2	13,9	4,1	14,6
2	0,4	13,4	0,4	12,5
3	0,4	12,4	0,4	15,0
4	1,0	7,4	1,1	11,8
5	1,8	13,2	1,9	12,6

16. BIBLIOGRAFIE

1. Song B.H. et al.; "Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation"; *Journal of Neuroimmunology*, **2017**; 15(308):50-64
2. Javed F., Manzoor K.N., et al.; "Zika virus: what we need to know?"; *Journal of Basic Microbiology*, **2018**; 58(1):3-16
3. Pierson T.C., Diamond M.S.; "The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes"; *Nature*, **2018**; 560(7720):573-581
4. Plourde A.R., Bloch E.M.; "A Literature Review of Zika Virus"; *Emerging Infectious Diseases*, **2016**; 22(7):1185-1192
5. Musso D., Gubler D.J.; "Zika Virus"; *Clinical Microbiology Reviews*, **2016**; 29(3):487-524
6. Calvet G. et al.; "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study"; *The Lancet Infectious Diseases*, **2016**; 16(6):653-660
7. Singh T., Lopez et al.; "Efficient transplacental IgG transfer in women infected with Zika virus during pregnancy"; *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2019**; 13(8):e0007648

	IT	Data di fabbricazione	ES	Fecha de fabricación
	EN	Date of manufacture	FR	Date de fabrication
	CZ	Datum výroby	PT	Data de fabrico
	DE	Herstellungsdatum	RO	Data fabricatiei
	EL	Ημερομηνία Παραγωγής		
	IT	Utilizzare entro	ES	Fecha de caducidad
	EN	Use By	FR	Utiliser jusqu'à
	CZ	Použitelné do	PT	Prazo de validade
	DE	Verwendbar bis	RO	A se folosi pana la
	EL	Ημερομηνία λήξης		
	IT	Non riutilizzare	ES	No reutilizar
	EN	Do not reuse	FR	Ne pas réutiliser
	CZ	Nepoužívejte opakovaně	PT	Não reutilizar
	DE	Nicht wieder verwenden	RO	A nu se refolosi
	EL	Μην κάνετε επαναληπτική χρήση		
	IT	Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	ES	Atención, ver instrucciones de uso
	EN	Caution, consult accompanying documents	FR	Attention voir notice d'instructions
	CZ	Pozor, čtěte příložené dokumenty	PT	Atenção, consulte a documentação incluída
	DE	Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Atentie, consultați documentele însoțitoare
	EL	Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα		
	IT	Fabbricante	ES	Fabricante
	EN	Manufacturer	FR	Fabricant
	CZ	Výrobce	PT	Fabricante
	DE	Hersteller	RO	Productator
	EL	Κατασκευαστής		
	IT	Contenuto sufficiente per "n" saggi	ES	Contenido suficiente para <n> ensayos
	EN	Contains sufficient for <n> tests	FR	Contenu suffisant pour "n" tests
	CZ	Obsah stačí na <n> testů	PT	Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	DE	Inhalt reicht für „n“ Tests	RO	Continut suficient pt <n> teste
	EL	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις		
	IT	Limiti di temperatura	ES	Límite de temperatura
	EN	Temperature limitation	FR	Limites de température
	CZ	Teplotní omezení	PT	Limites de temperatura
	DE	Temperaturgrenzwerte	RO	Limita da temperatura
	EL	Περιορισμοί θερμοκρασίας		
	IT	Consultare le istruzioni per l'uso	ES	Consulte las instrucciones de uso
	EN	Consult Instructions for Use	FR	Consulter les instructions d'utilisation
	CZ	Čtěte návod k použití	PT	Consulte as instruções de utilização
	DE	Die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Pentru a utiliza consultați instrucțiunile
	EL	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		
	IT	Rischio biologico	ES	Riesgo biológico
	EN	Biological risks	FR	Risques biologiques
	CZ	Biologická rizika	PT	Risco biológico
	DE	Biologisches Risiko	RO	Risk biologic
	EL	Βιολογικοί κίνδυνοι		
REF	IT	Numero di catalogo	ES	Número de catálogo
	EN	Catalogue number	FR	Référence du catalogue
	CZ	Katalogové číslo	PT	Referência de catálogo
	DE	Katalognummer	RO	Numar de catalog
	EL	Αριθμός καταλόγου		
IVD	IT	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN	In Vitro Diagnostic Medical Device	FR	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CZ	Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro	PT	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	DE	Medizinisches In-vitro-Diagnostikum	RO	Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro
	EL	Ιn Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν		
LOT	IT	Codice del lotto	ES	Código de lote
	EN	Batch code	FR	Code du lot
	CZ	Kód šarže	PT	Código do lote
	DE	Chargennummer	RO	Lot
	EL	Αριθμός Παρτίδας		
CE	IT	Marcatura CE di conformità	ES	Marcado CE de conformidad
	EN	CE marking of conformity	FR	Marquage de conformité CE
	CZ	Označení shody CE	PT	Marcação CE de conformidade
	DE	CE-Konformität Skennezeichnung	RO	Marcajul de conformitate CE
	EL	Σημανση συμμορφωση CE		